

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

для обучающихся по организации и проведению самостоятельной работы
по дисциплине «Получение биомедицинских клеточных продуктов»
для студентов специальности
06.04.01 Биология
Направленность (профиль) Клеточные и генетические технологии

ВВЕДЕНИЕ

Целью дисциплины «Получение биомедицинских клеточных продуктов», сформировать представление о получении биомедицинских клеточных продуктов, их дальнейшие возможности использования, а также методы их исследования.

Поэтому основными **задачами** изучения дисциплины являются:

1. Формирование знаний о применении клеток млекопитающих и растений для получения биотехнологической продукции (клеток, антител, рекомбинантных белков, вакцин и т. п.).
2. Изучение способов контроля состояния клеточной культуры, а также молекулярных механизмов регуляции синтеза биологических молекул.
3. Подготовка к работе в условиях биотехнологического производства, в том числе формирование умений по безопасной работе и разработке новых, более эффективных методов культивирования, ферментации, выделения целевого продукта.
4. Совершенствование профессиональных теоретических знаний о понятиях регенеративной медицины, клеточной биологии, классификации стволовых клеток, тканей, их источниках, свойствах, способах получения, культивирования, тестирования, криоконсервирования, хранения и других характеристиках биомедицинских клеточных продуктов.

Методические рекомендации по изучению теоретического материала

При выполнении самостоятельного изучения теоретического материала студент должен руководствоваться следующими правилами. За основу рекомендуется брать рабочую программу учебной дисциплины в библиотеке СКФУ. Согласно плану-графику аудиторных занятий и самостоятельной работы, на изучение отдельных тем отводится разное количество часов. Значительная часть самостоятельной работы студента должна отводиться на усвоение материала по пройденной теме, написании конспекта по заданным теоретическим блокам, поиску дополнительной литературы на базе библиотеки СКФУ и в системе интернет.

Поскольку по учебному плану лекции присутствуют, весь теоретический материал осваивается в процессе работы с лекционным материалом. Работа с рекомендованной литературой также обязательна. Особое внимание при этом необходимо обратить на содержание основных положений и выводов, объяснение явлений и фактов, уяснение практического приложения рассматриваемых теоретических вопросов. В процессе этой работы студент должен стремиться понять и запомнить основные положения рассматриваемого материала, примеры, поясняющие его, а также разобраться в иллюстративном материале.

Заканчивать подготовку следует составлением плана (конспекта) по изучаемому материалу (вопросу). Это позволяет составить концентрированное, сжатое представление по изучаемым вопросам.

Начинать надо с изучения материала лекции, а затем с рекомендованной литературы. Особое внимание при этом необходимо обратить на содержание основных положений и выводов, объяснение явлений и фактов, уяснение практического приложения рассматриваемых теоретических вопросов. В процессе этой работы студент должен

стремиться понять и запомнить основные положения рассматриваемого материала, примеры, поясняющие его, а также разобраться в иллюстративном материале.

Заканчивать подготовку следует составлением плана (конспекта) по изучаемому материалу (вопросу). Это позволяет составить концентрированное, сжатое представление по изучаемым вопросам.

При необходимости следует обращаться за консультацией к преподавателю. Идя на консультацию, необходимо хорошо продумать вопросы, которые требуют разъяснения.

Ведение записей способствует превращению чтения в активный процесс, мобилизует, наряду со зрительной, и моторную память. Следует помнить: у студента, систематически ведущего записи, создается свой индивидуальный фонд подсобных материалов для быстрого повторения прочитанного, для мобилизации накопленных знаний. Особенно важны и полезны записи тогда, когда в них находят отражение мысли, возникшие при самостоятельной работе.

Важно развивать у студентов умение сопоставлять источники, продумывать изучаемый материал.

Большое значение имеет совершенствование навыков конспектирования у студентов.

Преподаватель может рекомендовать студентам следующие основные формы записи: план (простой и развернутый), выписки, тезисы.

Результаты конспектирования могут быть представлены в различных формах.

План – это схема прочитанного материала, краткий (или подробный) перечень вопросов, отражающих структуру и последовательность материала. Подробно составленный план вполне заменяет конспект.

Конспект – это систематизированное, логичное изложение материала источника. Различаются четыре типа конспектов:

- План-конспект – это развернутый детализированный план, в котором достаточно подробные записи приводятся по тем пунктам плана, которые нуждаются в пояснении.
- Текстуальный конспект – это воспроизведение наиболее важных положений и фактов источника.
- Свободный конспект – это четко и кратко сформулированные (изложенные) основные положения в результате глубокого осмысливания материала. В нем могут присутствовать выписки, цитаты, тезисы; часть материала может быть представлена планом.
- Тематический конспект – составляется на основе изучения ряда источников и дает более или менее исчерпывающий ответ по какой-то схеме (вопросу).

Методические указания по подготовке к лабораторным занятиям

При подготовке к лабораторным занятиям рекомендуется изучить контрольные вопросы по данному занятию, теоретический материал лекции и из собственных конспектов. Основная форма работы на занятиях – собеседование. Каждый студент должен быть готовым к выступлению по всем поставленным в плане вопросам, проявлять максимальную активность при их рассмотрении. Выступление должно строиться свободно, убедительно и аргументировано. Преподаватель следит, чтобы выступление не сводилось к репродуктивному уровню (простому воспроизведению текста), не допускается и простое чтение конспекта.

Необходимо, чтобы выступающий проявлял собственное отношение к тому, о чем он

говорит, высказывал свое личное мнение, понимание, обосновывал его и мог сделать правильные выводы из сказанного. При этом студент может обращаться к записям конспекта, непосредственно к первоисточникам, использовать знание ранее изученных дисциплин и т. д.

При окончании освоения темы студент проходит итоговое тестирование. Оценка «отлично» выставляется студенту, если решено более 85% тестовых заданий, «хорошо» - если решено 70-85% тестовых заданий, «удовлетворительно» - 50-70% тестовых заданий, «неудовлетворительно» - менее 50% тестовых заданий.

Методические рекомендации по подготовке презентаций и докладов

Доклад должен содержать элементы новизны, наряду с фундаментальным аспектом должен быть проведен анализ современного состояния изучаемой проблемы, а также включенность в региональную проблематику.

Доклад должен состоять из введения, теоретической части, заключения, списка литературы и презентации, раскрывающей суть темы в графиках, картинках, схемах, формулах.

Доклад рекомендуется представлять в объеме 1 печатный лист. Текст работы должен быть напечатан через 1,5 интервала на одной стороне стандартного листа белой бумаги (А4). Текст и другие отпечатанные элементы работы должны быть черными, контуры букв и знаков – четкими, без ореола и затенения. Шрифт Times New Roman, кегель 14. Названия глав и параграфов выделяются полужирным шрифтом. Лист с текстом должен иметь поля: слева – 30 мм, справа – 10 мм, сверху – 20 мм, снизу – 20 мм. Нумерация страниц текста делается в правом нижнем углу листа. Проставлять номер страницы необходимо со страницы, где печатается «Введение», на которой ставится цифра «3». После этого нумеруются все страницы, включая приложения.

Между названием главы и названием параграфа этой главы ставится пробел равный двум интервалам, а название параграфа не должно отделяться от текста этого параграфа пробелом. Названия параграфов отделяются от текста предыдущего параграфа пробелом, равным двум интервалам. Каждая глава, а также введение, выводы, приложения и список использованной литературы начинаются с новой страницы. Слово «Глава» не пишется. Главы имеют порядковые номера в пределах всей работы, обозначаемые арабскими цифрами (например: 1, 2, 3), после которых ставится точка. Слово «параграф» или значок параграфа в названии не ставятся. Параграфы имеют порядковые номера в пределах глав, обозначаемые арабскими цифрами (например: 1.1. и 1.2.). Заголовки глав и параграфов в тексте работы должны располагаться по центру, точку в конце названия главы и параграфа не ставят. Не допускается переносить часть слова в заголовке. 4.5. Нумерация таблиц и рисунков может быть сквозной или соотноситься с номером главы и параграфа. Например, если таблица или рисунок включены в текст первого параграфа второй главы, нумерация следующая: Таблица 2.1.1., рис. 2.1.1. Последняя цифра означает порядковый номер таблицы (или рисунка) в данном параграфе. Таблица помещается в качестве следующей страницы после первого упоминания о ней в тексте.

Перечень основной литературы:

1. Молекулярная биология клетки [Текст] : с задачами Д. Уилсона и Т. Ханта : [в 3 т.] : пер с англ. - Москва ; Ижевск : Ин-т компьютер. исслед. : Регуляр. и хаот. 5 16 динамика, 2013. - Пер. изд.: Molecular biology of the cell : ref. ed. / B. Alberts et al. -

5th ed. - (Garland Science : Taylor & Francis Group). - Сплош. паг. Т. 3 / под ред. Е. С. Шилова и др. / пер. с англ. А. Н. Дьяконова и др. - 2013.

Перечень дополнительной литературы:

1. Медицинская нанобиотехнология [Электронный ресурс] : учебник / П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; под ред. В. П. Чехонина ; РНИМУ им. Н. И. Пирогова. - Электрон. текст. дан. - Москва, 2021. - Adobe Acrobat Reader. - Режим доступа:
<http://rsmu.informsystema.ru/loginuser?login=Читатель&password=010101>.

Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

1. Биомедицинские нанотехнологии, / Будкевич Е.В., Будкевич Р. — Издательство "Лань" ЭБС ЛАНЬ. 2020. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com>
2. Биомедицинские нанотехнологии, / Будкевич Е.В., Будкевич Р. — Издательство "Лань" ЭБС ЛАНЬ. 2020. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com>
3. Медицинская нанобиотехнология [Электронный ресурс] : учебник / П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; под ред. В. П. Чехонина ; РНИМУ им. Н. И. Пирогова. - Электрон. текст. дан. - Москва, 2021. - Adobe Acrobat Reader. - Режим доступа:
<http://rsmu.informsystema.ru/loginuser?login=Читатель&password=010101>.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины

1. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>
2. <https://www.elibrary.ru>
3. <https://www.scopus.com/home.uri>

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

по выполнению лабораторных работ
по дисциплине “Получение биомедицинских клеточных продуктов”
для студентов специальности
06.04.01 Биология
Направленность (профиль) Клеточные и генетические технологии

ВВЕДЕНИЕ

Целью дисциплины «Получение биомедицинских клеточных продуктов», сформировать представление о получении биомедицинских клеточных продуктов, их дальнейшие возможности использования, а также методы их исследования.

Поэтому основными **задачами** изучения дисциплины являются:

1. Формирование знаний о применении клеток млекопитающих и растений для получения биотехнологической продукции (клеток, антител, рекомбинантных белков, вакцин и т. п.).
2. Изучение способов контроля состояния клеточной культуры, а также молекулярных механизмов регуляции синтеза биологических молекул.
3. Подготовка к работе в условиях биотехнологического производства, в том числе формирование умений по безопасной работе и разработке новых, более эффективных методов культивирования, ферментации, выделения целевого продукта.
4. Совершенствование профессиональных теоретических знаний о понятиях регенеративной медицины, клеточной биологии, классификации стволовых клеток, тканей, их источниках, свойствах, способах получения, культивирования, тестирования, криоконсервирования, хранения и других характеристиках биомедицинских клеточных продуктов.

Наименование лабораторных работ

Наименование лабораторных работ
1. Номенклатура БМКП. Клеточная терапия. Тканевая инженерия. Регенеративная биомедицина. • Какие основные категории биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) существуют? • В чем разница между клеточной терапией, тканевой инженерией и регенеративной медициной? • Как классифицируются БМКП в соответствии с российским и международным законодательством?
2. Дендритно-клеточные вакцины, ММСК жировой ткани, костного мозга, кардиомиобласты. • Каков механизм действия дендритно-клеточных вакцин? В каких заболеваниях они применяются? • Каковы преимущества и ограничения мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) из разных источников (жировая ткань, костный мозг)? • Какие перспективы использования кардиомиобластов в лечении сердечно-сосудистых заболеваний?
3. Аутологичные и аллогенные фибробласты, клеточный материал из плаценты и пуповины человека. • В чем ключевые различия между аутологичными и аллогенными клеточными продуктами? • Каковы преимущества использования фибробластов в регенеративной медицине? • Почему клетки плаценты и пуповины считаются перспективным источником для терапии?

4. Производство БМКП и его лицензирование, доклинические и клинические исследования.

- Какие этапы включает производство БМКП?
- Какие нормативные документы регулируют лицензирование производства БМКП в РФ и за рубежом?
- Как согласуются доклинические и клинические исследования с требованиями регуляторных органов?

5. Особенности производства БМКП. Порядок лицензирования деятельности по производству БМКП.

- Какие специфические требования GMP (Good Manufacturing Practice) применяются к производству БМКП?
- Каков порядок получения лицензии на производство БМКП в России?
- Какие основные сложности возникают при организации производства клеточных продуктов?

6. Руководство по доклиническим исследованиям ЛС. GLP (Good Laboratory Practice).

- Каковы основные принципы GLP в доклинических исследованиях?
- Какие модели (in vitro, in vivo) наиболее релевантны для тестирования БМКП?
- Как оценивается безопасность клеточных продуктов на доклиническом этапе?

7. Клинические исследования БМКП и получение разрешений на их проведение. GCP (Good Clinical Practice).

- Каковы особенности дизайна клинических исследований для БМКП?
- Какие документы необходимы для получения разрешения на проведение КИ в РФ?
- Как стандарты GCP обеспечивают защиту прав пациентов в исследованиях БМКП?

8. Экспертиза эффективности и экспертиза польза-риск. Спецификация готового БМКП.

- Какие критерии используются при оценке эффективности БМКП?
- Как проводится анализ соотношения пользы и риска для клеточных продуктов?
- Какие параметры должны быть указаны в спецификации готового БМКП?

9. Подлинность клеточной линии и мировые подходы к установлению подлинности.

- Какие методы используются для подтверждения подлинности клеточных линий?
- Почему важно предотвращать контаминацию и перекрестное загрязнение клеточных культур?
- Какие международные стандарты регулируют идентификацию клеточных линий?

10. Показатели качества БМКП. Оценка вирусной безопасности.

- Какие параметры качества являются критическими для БМКП?
- Как проводится тестирование на вирусную безопасность клеточных продуктов?
- Какие методы стерилизации и контроля микробиологической чистоты применяются в производстве?

Практические задания для занятий:

1. Составить план работы по иммобилизации фермента путём его адсорбции на ионнообменном носителе.
2. Составить план работы по иммобилизации фермента путём его ковалентного связывания с носителем.
3. Определить, какие ошибки были допущены при выборе условий ферментации, если в процессе ферментации растительных клеток для увеличения выхода целевого

продукта предложили значительно увеличить температуру, объём ферментера, использовать трёхлопастную мешалку, увеличить подачу кислорода и повысить влажность среды.

4. Описать общую схему получения вакцин с помощью клеточных культур.
5. Дать сравнительную характеристику стволовых клеток растений и животных.
6. Описать направления практического использования стволовых клеток животных.
7. Охарактеризовать типы культивирования клеток животных.
8. Описать технологию получения моноклональных антител с помощью гибридом.
9. Охарактеризовать направления практического применения моноклональных антител.
10. Рассчитать общий объём ферментера для получения 300 кг биомассы женьшеня при непрерывном культивировании в течение 2-х месяцев и приросте биомассы 4,4 г/л в сутки. Используемый объём ферментера $\frac{2}{3}$ от общего объёма.
11. Рассчитать общий объём ферментера для получения 400 кг биомассы женьшеня при непрерывном культивировании в течение 2-х месяцев и приросте биомассы 2,2 г/л в сутки. Используемый объём ферментера $\frac{2}{3}$ от общего объёма.
12. Рассчитать общий объём ферментера для получения 400 кг биомассы клеток при непрерывном культивировании в течение 3-х месяцев и приросте биомассы 5,6 г/л в сутки, если полезный объём ферментера $\frac{2}{3}$ от общего объёма, а Кр.р. равен 1,15.
13. Рассчитать общий объём ферментера для получения 300 кг биомассы клеток при непрерывном культивировании в течение 3-х месяцев и приросте биомассы 5,8 г/л в 14. сутки, если полезный объём ферментера $\frac{2}{3}$ от общего объёма, а Кр.р. равен 1,18.
14. Рассчитать общий объём ферментера для получения 200 кг биомассы клеток при непрерывном культивировании в течение 3-х месяцев и приросте биомассы 5,4 г/л в сутки, если полезный объём ферментера $\frac{2}{3}$ от общего объёма, а Кр.р. равен 1,2.
15. Каким образом в условиях фармацевтического производства процесс сушки может оказать влияние на качество препаратов нормофлоры? Обоснуйте возможные методы и виды сушки при получении данной группы препаратов.

Перечень основной литературы:

1. Молекулярная биология клетки [Текст] : с задачами Д. Уилсона и Т. Ханта : [в 3 т.] : пер с англ. - Москва ; Ижевск : Ин-т компьютер. исслед. : Регуляр. и хаот. 5 16 динамика, 2013. - Пер. изд.: Molecular biology of the cell : ref. ed. / B. Alberts et al. - 5th ed. - (Garland Science : Taylor & Francis Group). - Сплош. паг. Т. 3 / под ред. Е. С. Шиловой и др. / пер. с англ. А. Н. Дьяконова и др. - 2013.

Перечень дополнительной литературы:

2. Медицинская нанобиотехнология [Электронный ресурс] : учебник / П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; под ред. В. П. Чехонина ; РНИМУ им. Н. И. Пирогова. - Электрон. текст. дан. - Москва, 2021. - Adobe Acrobat Reader.
- Режим доступа:
<http://rsmu.informsystema.ru/loginuser?login=Читатель&password=010101>.

Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

1. Биомедицинские нанотехнологии, / Будкевич Е.В., Будкевич Р. — Издательство "Лань" ЭБС ЛАНЬ. 2020. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com>
2. Биомедицинские нанотехнологии, / Будкевич Е.В., Будкевич Р. — Издательство "Лань" ЭБС ЛАНЬ. 2020. — Режим доступа: <http://e.lanbook.com>
3. Медицинская нанобиотехнология [Электронный ресурс] : учебник / П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко ; под ред. В. П. Чехонина ; РНИМУ им. Н. И. Пирогова. - Электрон. текст. дан. - Москва, 2021. - Adobe Acrobat Reader.
- Режим доступа:
<http://rsmu.informsystema.ru/loginuser?login=Читатель&password=010101>.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины

1. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>
2. <https://www.elibrary.ru>
3. <https://www.scopus.com/home.uri>